

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.13.027

宫颈脱落细胞 HPV L1 蛋白及 HPV DNA 载量对宫颈病变的预测价值

李美琴¹, 李春宏², 裴圣林¹, 黄文成¹, 李佩章¹, 黄玲莎^{1△}

(1. 广西医科大学附属肿瘤医院检验科, 南宁 530021; 2. 广西医科大学公共卫生学院, 南宁 530021)

[摘要] **目的** 探讨宫颈脱落细胞 HPV L1 蛋白、人乳头瘤病毒(HPV) DNA 载量对宫颈病变的预测作用。**方法** 选取宫颈病变患者 362 例, 宫颈刷采集宫颈脱落细胞, 采用免疫化学方法检测 HPV L1 蛋白, HC2 技术检测 HPV DNA 载量, 根据宫颈组织病理学结果将患者分为慢性宫颈炎(190 例)、宫颈上皮内瘤变 I 期(CIN I, 45 例)、宫颈上皮内瘤变 II 期(CIN II, 43 例)、宫颈上皮内瘤变 III 期(CIN III, 46 例)和宫颈癌(38 例); 根据宫颈细胞学检查结果将脱落细胞分为未见异常细胞(NILM, 122 例), 未明确性非典型鳞状上皮细胞(ASCUS, 75 例), 可疑非典型鳞状上皮病变细胞(ASCH, 52 例), 低度鳞状上皮内病变(LSIL, 61 例)和高度鳞状上皮内病变(HSIL, 52 例), 比较不同宫颈病变 HPV L1 蛋白、HPV DNA 载量的差异。**结果** 130 例宫颈脱落细胞 HPV L1 蛋白阳性, 阳性率为 35.91% (130/362), 其中 HPV L1 蛋白阳性率由大至小分别为: 慢性宫颈炎 > CIN I 期 > CIN II 期 > CIN III 期 > 宫颈癌, NILM > ASCUS > ASCH > LSIL > HSIL, 不同宫颈病变组织病理学或细胞学类型比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 272 例 HPV DNA 阳性, 阳性率为 75.14%, 低度 HPV DNA 载量以慢性宫颈炎或 NILM 最多, 高度 HPV DNA 载量以宫颈癌或 HSIL 最多, 明显高于其他宫颈组织病理学或细胞学类型 ($P < 0.05$)。**结论** HPV L1 蛋白在宫颈脱落细胞的表达随着宫颈病变程度加重而下调, HPV DNA 载量随宫颈病变程度加重而上调, 二者检测在宫颈病变程度的预测中具有重要的价值。

[关键词] 宫颈疾病; 人乳头瘤病毒; 脱落细胞蛋白**[中图分类号]** R711.74**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)13-1804-03

Predictive value of cervical exfoliated cell HPV L1 protein, HPV DNA load in cervical lesions

Li Meiqin¹, Li Chunhong², Pei Shenglin¹, Huang Wencheng¹, Li Peizhang¹, Huang Lingsha^{1△}

(1. Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China;

2. Public Health College of Guangxi Medical University School, Nanning, Guangxi 530021, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the predictive effect of cervical exfoliated cell HPV L1 protein and HPV DNA load for cervical lesions. **Methods** 362 patients with cervical lesions were selected, the exfoliated cervical cells were collected by cervical brush, HPV L1 protein was detected by immunohistochemical method, HPV DNA load was detected HC2. According the cervical histopathological results, the patients were divided into chronic cervicitis (190 cases), cervical intraepithelial neoplasia (CIN I, $n=45$), CIN II ($n=43$), CIN III ($n=46$) and cervical cancer ($n=38$). According to the cervical cytology results, the exfoliated cells were divided into normal cells (NILM, 122 cases), unclear of atypical squamous cells (ASCUS, $n=75$), atypical cells suspicious squamous intraepithelial lesions (ASCH, $n=52$), low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL, $n=61$) and high grade squamous intraepithelial lesions (HSIL, $n=52$). HPV L1 protei and HPV DNA load were compared among different cervical lesions. **Results** 130 cases of cervical exfoliated cells were the HPV L1 protein positive with the positive rate of 35.91% (130/362), in which the positive rates from great to small were chronic cervicitis > CIN I > CIN II > CIN III > cervical cancer, NILM > ASCUS > ASCH > LSIL > HSIL, the differences in histopathological or cytological results among differenct cervical lesion tissues were statistically significant ($P < 0.05$). 272 cases were HPV DNA positive with the positive rate of 75.14%, the most of chronic cervicitis or NILM had the low HPV DNA load, the most of cervical cancer or HSIL had high HPV DNA load, which were significantly higher than those in other cervical tissue pathological or cytological types, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Along with the cervical lesion dgrees get serious, the expression of HPV L1 protein in cervical exfoliated cell is down-regulated, while the HPV DNA load is up-regulated, therefore both detections have important value in predicting cervical lesions degree.

[Key words] uterine cervical diseases; human papillomavirus; exfoliated cells

宫颈癌是常见的女性恶性肿瘤, 严重威胁女性患者的身心健康。近年来宫颈癌发生率呈明显上升趋势, 发病年龄也呈现明显的年轻化倾向。大量流行病学资料证实, 人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)与宫颈癌的发生紧密相关, HPV L1 蛋白是 HPV 感染细胞和重要靶点, 可作为机体免疫应答攻击 HPV 病毒的靶点, 宫颈鳞状上皮细胞 HPV L1 蛋白表达降低反映了宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)细胞免疫逃逸, 机体无法彻底清除部分 CIN 细胞, 导致宫颈浸润性癌的发生^[1]。HPV DNA 载量与宫颈病变程

度是否具有相关性, 是否可以初步作为宫颈病变的评估依据尚未具有明确的定论^[2]。相关研究发现: 不同组织病理学类型的宫颈病变与病毒载量具有明显的相关性, 其 HPV DNA 载量越高, 宫颈病变程度越严重^[3]。本研究通过探讨宫颈脱落细胞 HPV L1 蛋白表达和 HPV DNA 载量在宫颈病变中的评估价值, 旨在为宫颈癌的筛查提供指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 1 月至 2014 年 6 月在本院就诊的 362 例宫颈病变患者作为研究对象, 纳入标准: 有性生活, 无

子宫切除术和宫颈手术史,无盆腔放射治疗史,无妊娠,年龄 24~70 岁,平均(44.65±6.57)岁,根据宫颈组织病理学(由 3 名组织病理学医师统一诊断)结果将患者分为慢性宫颈炎($n=190$),宫颈上皮内瘤变 I 期(CIN I, $n=45$),宫颈上皮内瘤变 II 期(CIN II, $n=43$),宫颈上皮内瘤变 III 期(CIN III, $n=46$)和宫颈癌($n=38$),不同宫颈组织病变患者年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。根据宫颈液基细胞学检查结果将脱落细胞分为未见异常细胞(NILM, $n=122$),未明确性非典型鳞状上皮细胞(ASCUS, $n=75$),可疑非典型鳞状上皮病变细胞(ASCH, $n=52$),低度鳞状上皮内病变(LSIL, $n=61$)和高度鳞状上皮内病变(HSIL, $n=52$),不同宫颈液基细胞学检查结果的患者年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 第二代杂交捕获试验系统(Digene Company, 美国), HPV L1、HPV DNA 试剂盒(Eddie Vance Company, 美国)和液基细胞学(Cytcy, 美国)等。

1.3 检测方法 宫颈刷采集宫颈脱落细胞,采用免疫化学方法检测 HPV L1 蛋白,第二代杂交捕获试验(Hybrid Capture 2, HC2)检测 HPV DNA 载量。

1.3.1 标本采集 全部患者采用宫颈刷插入宫颈口旋转 5 周,刷头放入含 Cytorich 保存液的小瓶中涮洗,采集宫颈表面和宫颈管处脱落上皮细胞,取出刷头,盖好,作标记,送检。HPV-DNA 采样:宫颈刷插入宫颈口逆时针旋转 3 周,停留 10 s,采样刷放入储存瓶中,盖好,冰冻箱储存,3 周内检测。

1.3.2 HPV L1 蛋白和 HPV DNA 载量测定 宫颈脱落细胞采用液基细胞学技术测定,统一由固定细胞学医师阅片,HPV L1 蛋白严格按照操作指南测定,见红染细胞核则为 HPV L1 蛋白阳性。HPV DNA 载量测定利用对抗体捕获信号放大和化学发光信号检测,样本产生光信号经微孔板判读仪器测量,获得相对光单位,与设置的标准阳性对照比值作为 HPV DNA 载量的结果, <1.00 为阴性, ≥ 1.00 为阳性,比值越高,HPV DNA 载量越高,其中 $1.00\sim 10.00$ 为轻度 HPV DNA 载

量, $10.00\sim 100.00$ 为中度 HPV DNA 载量, ≥ 100.00 为重度 HPV DNA 载量。

1.4 统计学处理 数据采用 SPSS18.0 统计软件进行分析,计数资料用百分率表示,采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 提示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同宫颈组织病理学 HPV L1 蛋白和 HPV DNA 载量的比较 130 例宫颈脱落细胞 HPV L1 蛋白阳性,阳性率为 35.91%(130/362),其中 HPV L1 蛋白阳性率由大至小分别为:慢性宫颈炎>CIN I 期>CIN II 期>CIN III 期>宫颈癌,不同宫颈病变组织病理学类型比较差异具有统计学意义($P<0.05$),272 例 HPV DNA 阳性,阳性率为 75.14%,其中宫颈癌 HPV DNA 阳性率为 92.11(35/38),CIN III 期 HPV DNA 阳性率为 89.13%(41/46),CIN II 期 HPV DNA 阳性率为 88.37%(38/43),CIN I 期 HPV DNA 阳性率为 75.56%(34/45),慢性宫颈炎 HPV DNA 阳性率为 65.26%(124/190),CIN II 分期以上 HPV DNA 阳性率明显增高,差异具有统计学意义($P<0.05$),其中低度 HPV DNA 载量以慢性宫颈炎最多,高度 HPV DNA 载量以宫颈癌最多,明显高于其他宫颈组织病理学类型,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 不同宫颈细胞学 HPV L1 蛋白和 HPV DNA 载量的比较 HPV L1 蛋白阳性率由大至小分别为:NILM>ASCUS>ASCH>LSIL>HSIL,不同宫颈细胞学类型比较差异具有统计学意义($P<0.05$),HSIL HPV DNA 阳性率为 94.23%(49/52),LSIL HPV DNA 阳性率为 85.25%(52/61),ASCH HPV DNA 阳性率为 76.92%(40/52),ASCUS HPV DNA 阳性率为 74.67%(56/75),NILM HPV DNA 阳性率为 64.75%(79/122),不同宫颈细胞学类型比较差异具有统计学意义($P<0.05$),其中低度 HPV DNA 载量以 NILM 最多,高度 HPV DNA 载量以 HSIL 最多,明显高于其他宫颈细胞学类型,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 1 不同宫颈组织病理学 HPV L1 蛋白和 HPV DNA 载量的比较[n(%)]

组别	n	HPV L1 蛋白		HPV DNA 载量			
		阴性	阳性	阴性	低度	中度	高度
慢性宫颈炎	190	95(50.00)	95(50.00)	66(34.74)	82(43.16)	30(15.79)	12(6.31)
CIN I 期	45	27(60.00)	18(40.00)	11(24.44)	15(33.33)	14(31.11)	5(11.11)
CIN II 期	43	33(76.74)	10(23.26)	5(11.63)	12(27.91)	17(39.53)	9(20.93)
CIN III 期	46	40(86.96)	6(13.04)	5(10.87)	9(19.56)	20(43.48)	12(26.09)
宫颈癌	38	37(97.37)	1(2.63)	3(7.89)	4(10.53)	16(42.11)	15(39.47)
χ^2		7.85		6.04			
P		<0.05		<0.05			

表 2 不同宫颈细胞学 HPV L1 蛋白和 HPV DNA 载量的比较[n(%)]

组别	n	HPV L1 蛋白		HPV DNA 载量			
		阴性	阳性	阴性	低度	中度	高度
NILM	122	56(45.90)	66(54.10)	43(35.25)	55(45.08)	19(15.57)	5(4.10)
ASCUS	75	47(62.67)	28(37.33)	19(25.33)	26(34.67)	20(26.67)	10(13.33)
ASCH	52	40(76.92)	12(23.08)	12(23.08)	14(26.92)	20(38.46)	6(11.54)
LSIL	61	46(75.41)	15(24.59)	9(14.75)	12(19.67)	26(42.62)	14(22.95)
HSIL	52	43(82.69)	9(17.31)	3(5.77)	5(9.62)	20(38.46)	24(46.15)
χ^2		6.11		5.41			
P		<0.05		<0.05			

3 讨 论

HPV 感染是导致宫颈细胞不典型增生和 CIN 形成的病因之一, CIN 病情发展, HPV 未清除是导致宫颈浸润性癌的重要原因^[4]。宫颈癌前病变筛查, 寻找有效的宫颈癌预测指标在宫颈癌早期干预, 降低宫颈癌发生率和病死率中具有重要的价值。HPV L1 蛋白是主要的特异性 HPV 抗原, 其阳性表达证实 HPV 病毒复制, HPV 未与宿主 DNA 结合, 宿主细胞分化正常^[5]。HPV L1 蛋白与 T 淋巴细胞形成免疫复合物, 参与细胞免疫功能和抗体形成, 彻底消除 HPV 病毒, 宫颈病变具有明显的自愈趋势^[6]。而 HPV L1 蛋白阴性表达则在一定程度上提示 HPV 病毒与宿主 DNA 结合, 细胞分化异常, 机体免疫功能减弱, 宫颈病变加重。因此, HPV 病毒是宫颈病变的高危因素, HPV L1 蛋白是宫颈病变的保护因素^[7]。HPV DNA 病毒载量越高, HPV L1 蛋白阴性表达, 宫颈癌病变的发生率显著增高; 而 HPV DNA 病毒载量越低, HPV L1 蛋白阳性表达, 宫颈癌病变的发生率显著降低。大量研究证实 HPV L1 蛋白、HPV DNA 病毒载量与宫颈病变具有明显相关性^[8], 但关于二者在宫颈病变程度中的预测作用研究较少。

本研究结果显示, 在不同组织病理学类型宫颈脱落细胞 HPV L1 蛋白的阳性率比较发现, 慢性宫颈炎 HPV L1 蛋白的阳性率最高, 而宫颈癌 HPV L1 蛋白的阳性率最低, 提示了宫颈脱落细胞 HPV L1 蛋白阳性表达随着宫颈病变加重而显著降低, 其与宫颈病变程度呈明显负相关^[9]。同时, 在不同类型宫颈脱落细胞中发现, NILM HPV L1 蛋白的阳性率最高, HSIL 最低, 证实了 HPV L1 蛋白的阳性表达随着宫颈病变程度加重而降低。另一方面, 低度 HPV DNA 载量以慢性宫颈炎或 NILM 最多, 高度 HPV DNA 载量以宫颈癌或 HSIL 最多。本研究结果提示了宫颈病变程度越轻, HPV DNA 载量越低, 宫颈病变程度越严重, HPV DNA 载量越高, HPV DNA 载量与宫颈病变呈正相关^[10]。CIN I 期随着病情的发展可逐渐进展至浸润癌, 但大部分 CIN I 期可逐渐恢复至正常宫颈上皮细胞, 宫颈病变的改变与 HPV L1 蛋白和 HPV DNA 载量显著相关, 检测二者阳性率有助于预测宫颈癌发生风险^[11]。相关文献显示, HPV 病毒是导致宫颈病变的主要原因之一^[12]。作为特异性抗原, HPV L1 蛋白具有清除 HPV 病毒的作用, HPV L1 蛋白阳性表达时, HPV 病毒清除率越高, HPV DNA 载量显著降低, 宫颈病变程度越轻^[13]。因此, 在一定程度上, HPV L1 蛋白与 HPV DNA 载量具有明显的负相关。其中, 宫颈病变程度最轻的慢性宫颈炎和 NILM 患者 HPV L1 蛋白阳性表达率最高, HPV DNA 载量处于低度 HPV DNA 载量, 反之, 宫颈病变最重的宫颈癌和 HSIL 患者阴性表达率最高, HPV DNA 载量处于高度 HPV DNA 载量, 与相关研究结果具有一致性^[14-15]。

综上所述, HPV L1 蛋白在宫颈脱落细胞的表达随着子宫颈病变程度加重而下调, HPV DNA 载量随子宫颈病变程度加重而上调, 二者检测在子宫颈病变程度的预测中具有重要的价值。

参考文献

- [1] 欧雪峰. 子宫颈病变中 HPV L1 蛋白和 p16 的表达与临床意义[J]. 海南医学院学报, 2011, 17(5): 592-595.
- [2] 钱敏, 姚芳芳, 尤志学. 宫颈脱落细胞中 HPV L1 壳蛋白

的表达及临床意义[J]. 中国妇产科临床杂志, 2013, 14(1): 30-34.

- [3] 班振英, 雷冬梅, 智艳芳, 等. HPV L1 壳蛋白在宫颈脱落细胞及的表达及意义[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(14): 2245-2248.
- [4] 刘娜, 王英红, 阿曼古丽. HC2 检测高危型 HPV-DNA 载量与子宫颈病变的关系[J]. 中国妇幼保健, 2010, 25(28): 4138-4143.
- [5] Mouallif M, Bowyer H, Festali S, et al. Primary cervical cancer prevention in morocco: HPV vaccine awareness and acceptability among parents[J]. Proc Vaccinol, 2014, 8(1): 68-76.
- [6] 智艳芳, 徐雪峰, 李肖甫, 等. 河南地区宫颈上皮内瘤变及宫颈癌患者 HPV 感染型别分析[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2014, 48(2): 142-146.
- [7] 吕向华. TCT、HPV-DNA 及阴道镜联合检测在宫颈癌和癌前病变筛查中的应用[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(18): 3006-3008.
- [8] Chung HS, Hahm C, Lee M. Comparison of the clinical performances of the advanced HPV screening real-time PCR, the abbot teal-time high-risk HPV test, and the hybrid capture high-risk HPV DNA test for cervical cancer screening[J]. J Virol Methods, 2014, 205(1): 57-60.
- [9] 盛清, 程柯, 洪颖, 等. HPV L1 壳蛋白在诊断宫颈上皮内瘤变及预测其转归中的临床价值[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 7(3): 77-80.
- [10] 邓晓娥, 王蔚蓝, 司建英, 等. 高危型人乳头状瘤病毒导致宫颈癌的临床病理研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(5): 1057-1058.
- [11] 孙雪松, 丁玲, 陈芳, 等. 叶酸缺乏及其与 HPV16 感染的交互效应对宫颈癌变的影响[J]. 中华流行病学杂志, 2014, 35(4): 437-441.
- [12] Ward C, Pedraza J, Kavanagh K, et al. An evaluation of the Qiagen HPV sign for the detection and genotyping of cervical lesions and oropharyngeal squamous cell carcinomas [J]. J Virol Methods, 2014, 207(2): 128-132.
- [13] Mooij SH, Landén O, van der Klis FR, et al. No evidence for a protective effect of naturally induced HPV antibodies on subsequent anogenital HPV infection in HIV-negative and HIV-infected MSM[J]. J Infect, 2014, 69(4): 375-386.
- [14] 陈文学, 张妮和, 邹学森, 等. 导流杂交检测人乳头状瘤病毒感染与宫颈癌临床分期及病理分型关系[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(12): 2882-2884.
- [15] Saraiya M, Benard VB, Greek AA, et al. Articles in full type-specific HPV and pap test results among low-income, underserved women: providing insights into management strategies[J]. Am J Obstet Gynecol, 2014, 211(4): 354-356.